

Helmut Pies

BIOKINETIK DES BLEOMYCIN – Co^{57} – KOMPLEXES
IM RATTENKÖRPER

1976

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547917_0051

Aus dem Institut für Klinische Strahlenkunde
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Biokinetik des Bleomycin-Co⁵⁷-Komplexes
im Rattenkörper.

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Helmut Pies

aus Trier.

Mainz
1976



Fachbereichsdekan: Professor Dr. rer. nat. Rudolf Wolf

1. Gutachter : Professor Dr. rer. nat. Rudolf Wolf

2. Gutachter : Professor Dr. med. Klaus Hahn

Übersicht

I.	Einleitung	1
II.	Material	4
	1. Bleomycin	4
	2. Bleomycin-Co ⁵⁷	5
III.	Methodik	7
	1. Versuchstiere	7
	2. Anaesthesie	7
	3. Applikationsart	7
	4. Blutentnahme	7
	5. Sammeln der Urinproben	8
	6. Organentnahme	8
	7. Fehlereinschätzung der Organentnahme	10
	8. Gewichtsmessung	10
IV.	Messverfahren	11
	1. Apparat	11
	2. Messdauer	11
	3. Background	11
	4. Probenaufbereitung	11
	5. Fehler der Radioaktivitätsmessung	11
	6. Geometrische Fehler des Messsystems	12
	7. Totzeit der Zählapparatur	13
V.	Aktivitätsmessung in den verschiedenen Organen	14
	1. Blutclearance	15
	2. Renale Elimination	17
	3. Fecale Elimination	19
	4. Gewebsverteilung	20
VI.	Relative Aktivitätsanreicherung der Gewebe	26
VII.	Stabilität des Bleomycin-Co ⁵⁷ - Komplexes	34
VIII.	Diskussion	38
IX.	Zusammenfassung	45
X.	Literatur	47
XI.	Lebenslauf	49

I. Einleitung

Von G.v. Hevesy, der 1925 erste Tracerversuche anstellte, wird folgende kleine Geschichte erzählt: Im Jahre 1911, während seiner Tätigkeit bei Rutherford, dem Entdecker der chemischen Umwandlung beim Kernzerfall, pflegte v. Hevesy seine Mahlzeiten in einer kleinen Pension einzunehmen, gemeinsam mit seinen Kollegen. Das Essen war wenig schmackhaft. Man hatte den Verdacht, daß die Essensreste einer ständigen Wiederverwertung zugeführt wurden. Um diese Vermutung zu prüfen, mischte v. Hevesy eine Tracerdosis eines natürlichen Radionuklids unter die Speisereste. Und tatsächlich, im Haschee des nächsten Tages konnte er die Radioaktivität wiederfinden.

Dieser erste "Biologische Versuch", wenn auch nicht publiziert, sondern nur durch mündliche Überlieferung bekannt, kennzeichnet wohl sehr anschaulich das Wesen der nuklearmedizinischen Diagnostik: Verabreichung und Verfolgung eines radioaktiven Isotops oder einer radioaktiv markierten chemischen Verbindung bis hin zum Ort seiner Metabolisierung, oder im Falle der Tumordiagnostik bis zum Ort seiner selektiven Anreicherung.

Für eine optimale Tumordiagnostik wäre das Auffinden einer Substanz mit tumorspezifischen Valenzen wünschenswert. Nicht zuletzt könnten solche Substanzen indirekt dazu beitragen, Aufschlüsse über das Zellgeschehen autonom wachsender Gewebe zu erhalten. Andererseits er-

schwert die Unkenntnis über neoplastatische Zellstoffwechselvorgänge eine zielgerichtete Suche nach solchen tumoraffinen Substanzen, so daß viele radioaktiv markierte chemische Verbindungen auf rein empirischem Weg zur Anwendung kommen.

Mit Bleomycin, einem neuen Antitumor-Antibiotikum, ist ein neues Medikament zur Behandlung maligner Geschwulste in der Erprobung. Es liegt nahe, die Tumoraффinität Bleomycins nicht nur zu therapeutischen Zwecken, sondern auch durch radioaktive Etikettierung zur Lokalisationsdiagnostik maligner Tumoren und ihrer Metastasen zu verwenden. In der Absicht, ein an Bleomycin möglichst fest gekoppeltes Isotop zu finden, wurde in einer französischen Studie die Markierung Bleomycins mit mehreren 2-wertigen Kationen aus der Reihe der Übergangsmetalle vorgenommen (1). Die unterschiedliche in vitro und in vivo Stabilität der dabei entstehenden Chelatkomplexe schränken ihre Anwendung bis auf Co^{57} und Cu^{67} ein. Die ermutigenden Ergebnisse einer weiteren französischen Arbeit, deren Autoren durch Applikation von Co^{57} -Bleomycin bei 10 tumortragenden Patienten eine präzise Lokalisationsdiagnostik der histologisch differenten Tumortypen betreiben konnten, fordern zu weiteren klinischen und experimentellen Untersuchungen mit Co^{57} -Bleomycin auf (2).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Biokinetik des Co^{57} -Bleomycin-Komplexes bei tumortragenden Ratten. Nicht also die qualitative Wirkung des Radiopharmakons auf den Organismus, sondern vielmehr die quantitative Auseinandersetzung des Organismus mit der ihm verabreichten Substanz rückt in den Vordergrund des Interesses.

II. Material

1. Bleomycin

Bleomycin, ein Medikament zur Behandlung neoplastatischer Erkrankungen, wurde 1962 von H. Umezawa entdeckt (4). Seine ausgesprochen zytotoxische Wirkung stellten erstmals klinische Untersuchungen in Japan heraus (3). Zahlreiche nachfolgende klinische Studien in Europa und den USA bestätigten diese ersten Befunde (3).

Die Substanz, deren chemische Strukturanalyse eine Reihe von basischen Glucopeptiden mit einem mittleren Molekulargewicht von 1400 ergab, wird in einem Nährsubstrat bei geeigneten Wachstumsbedingungen aus einem Stamm des *Streptomyces verticillus* gebildet (4). Dies erklärt die bakteriostatische Wirkung von Bleomycin auf Gram positive und Gram negative Erreger (5).

Der Angriffspunkt von Bleomycin liegt im Zellkern, wo es in niedriger Konzentration die Zellteilung, in höherer Konzentration den Einbau von Thymidin in die DNS hemmt. Darüberhinaus interferiert es mit den verschiedenen Enzymsystemen. Während es die DNS-Nucleasen stimuliert, werden die Ligasen und Polymerasen gehemmt (6,7).

Über den zeitlichen Angriffspunkt während eines Generationszyklus liegen unterschiedliche proliferationskinetische Berichte vor. Bei S-3 Zellen besteht in der frühen G-Periode eine hohe Resistenz gegen Bleomycin.

Ihre Empfindlichkeit steigt gegen Ende der G_1 -Periode an und ist zu Beginn der S-Phase am größten (8). Demgegenüber liegen Ergebnisse von in vitro Untersuchungen mit Chinese-Hamster-Zellen vor, die von einer biphasischen Überlebensrate mit maximaler Empfindlichkeit in der G_2 - und Mitosephase berichten (9).

Pharmakologische Wirkungen zeigen sich vor allem in einem leichten Blutdruckabfall sowie einer histaminähnlichen, kapillardilatierenden Wirkung bei intraarterieller Verabreichung (3). Die im Tierversuch festgestellte Erhöhung der Körpertemperatur stellt sich auch beim Menschen ein, in einigen Fällen bis 39°C (3). Daneben können uncharakteristische Allgemeinsymptome wie Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen, Schwindel und Müdigkeit auftreten (3). Recht unterschiedliche Nebenwirkungen sind im Bereich der Haut zu beobachten. Das Erscheinungsbild reicht von leichter Rötung bis hin zum bunten Nebeneinander verschiedenster Effloreszenzen (3). Neben diesen sämtlich reversiblen Nebenwirkungen des Bleomycins stellen die interstitiellen pneumonischen Veränderungen, die in eine irreversible Lungenfibrose übergehen können, einen limitierenden Faktor in der Therapie mit Bleomycin dar (3).

2. Bleomycin-Co⁵⁷

Zur Herstellung des Bleomycin-Co⁵⁷-Komplexes wurde

Co^{57} -Chlorid in 0,1 M HCl verwendet. Die Zusammensetzung von 1 ml = 1,8 μg Co kann wie folgt angegeben werden: Auf 1 mCi Co^{57} kommen 2,4 μCi Co^{56} und 6,9 μCi Co^{58} . Die Lösung wurde vor der Anwendung auf 5 ml verdünnt, so daß 1 mCi Co^{57} in 0,5 ml enthalten waren. Nun wurden 15 mg Bleomycin mit 2 ml physiologischer NaCl-Lösung versetzt. Es entstand sofort eine klare Lösung. Nach Durchmischung mit 0,5 ml der Co^{57} -Lösung erfolgte Überführung in eine sterile Ampulle unter gleichzeitiger Verdünnung auf 25 ml. Die spezifische Aktivität der jetzigen Lösung betrug 66 μCi Co^{57} / 1 mg Bleomycin. Zur Untersuchung am Menschen werden 15 mg Bleomycin und 1 mCi Co^{57} eingesetzt. Nimmt man ein Durchschnittsgewicht von 70 kg an, so entspricht das 0,214 mg Bleomycin und 14,3 μCi Co^{57} pro kg Körpergewicht. Wählt man ähnliche Dosierungen bei Ratten mit einem Gewicht von durchschnittlich 200g, so werden etwa 3 μCi Co^{57} und 43 μg Bleomycin pro Tier benötigt. Das applizierte Volumen betrug 0,1 ml, das entspricht 60 μg Bleomycin und 4 μCi Co^{57} .

III. Methodik

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 120-220 g schwere männliche und weibliche Wistar-Ratten eines einheitlichen Stammes, denen in die Oberschenkelmuskulatur der hinteren rechten Extremität ein bösartiger Tumor vom Typ des transplantablen Myelosarkoms T58 von Oberling und Guerin (10) implantiert worden war. Die Tiere wurden in Plastikkäfigen bei Altrummkost und Wasser ad libitum gehalten. Die Temperatur im Laboratorium betrug zwischen 22°C und 32°C.

2. Anaesthesie

Als Narkotikum diente ein mit Äther getränkter Tupfer. Während der Applikation des Radiopharmakons waren die Tiere 15-20 min. in dieser Narkose.

3. Applikationsart des Radiopharmakons

Die Stammlösung wurde durch eine 1 ml Tuberkulinspritze aufgezogen. Anschließend wurde durch einen ungefähr 5 mm großen Hautschnitt und stumpfe Präparation die vena jugularis freigelegt, und die Lösung injiziert. Der Hautdefekt wurde mit zwei Nähten sowie Leucomycin und Neobacitin behandelt.

4. Blutentnahme

Die Tötung des Tieres fand in Äthernarkose statt. Dabei wurde das Blut durch intracardiale Punktion bis zum Sistieren des Kreislaufes gewonnen.

5. Sammeln der Urinproben

Der Urin wurde von vor die Uretramündung angebrachten saugfähigen Tupfern aufgefangen. Diese wurden halbstündlich und in Narkose durch neue ersetzt. Um eine maximale Urinausbeute zu erhalten, wurden die Tiere vor Entfernung eines jeden einzelnen Tupfers einer Angstsituation ausgesetzt. Insgesamt wurden 8 Urinfraktionen aufgefangen. Die Methode ist durch den möglichen Verbleib einer unbestimmbaren Restharnmenge in der Harnblase mit einer gewissen Fehlerbreite behaftet. Da die möglich verbliebene Restharnmenge in der nächsten Urinprobe auftaucht, wird dieser Fehler bei längerer Versuchsdauer vernachlässigbar klein.

6. Organentnahme

Folgende Organe wurden den Tieren entnommen:

Leber, Milz, Magen, Darm, Nieren, Lunge, Herz, Muskel, Knochen, Fett, Hoden, Gehirn.

Die Gefäße des Leberhilus und die Lebervenen wurden unter Aufsaugen der austretenden Blutmengen durchtrennt, wobei durch vorsichtiges Ausdrücken auf eine möglichst vollständige Ausblutung der Leber geachtet wurde. Der Gastrointestinaltrakt wurde vollständig vom Mesenterium getrennt und in einen Magen- und einen Darmanteil unterteilt. Der Inhalt wurde den Organen belassen. Alle übrigen Organe wurden ebenso wie die Leber dem Körper entnommen. Bei der Niere sollte eine doppelte Ligatur um

den Ureter eine Benetzung der Organe mit radioaktivem Urin verhindern. Nach Durchtrennung des Ureters zwischen beiden Ligaturen und nach Entnahme des Organs aus dem retroperitonealen Fettgewebe wurde durch die Lösung der nierenwärts gerichteten Ligatur eventuell im Nierenbecken vorhandener radioaktiver Urin auf einen Tupfer ausgelassen. Anschließend wurde das Organ aus seiner Kapsel geschält.

Die Muskulatur entstammt dem Oberschenkel der hinteren linken Extremität.

Das Fettgewebe wurde dem retroperitonealen Fettkörper entnommen.

Der Knochen stellt den gänzlich von Muskeln und Sehnen befreiten linken Femur dar.

Die Tumoren, die zum Zeitpunkt des Untersuchungsbeginns ungefähr 18-20 Tage alt waren, wogen im Schnitt zwischen 5 und 20 g. Das umliegende Muskelgewebe war stark von Tumorstrukturen infiltriert, und eine isolierte Ausschälung des Tumors war nicht immer möglich. Der Anteil von Muskelstrukturen am gemessenen Tumormaterial kann mit 5-10% veranschlagt werden. Gemessen wurden sowohl nekrotische wie auch noch im Wachstum befindliche Tumorteile. Der geringe Muskelanteil im Tumorgewebe sowie mögliche Affinitätsunterschiede nekrotischer und solider Tumorstrukturen zum Radiopharmakon stellen Fehlerquellen bei der Tumoraktivitätsmessung dar. Tiere, deren Tumor

infolge gewaltiger Ausdehnung zur Verlegung von Ureter oder Darm geführt hatte , wurden nicht in die Versuchsreihe aufgenommen.

7. Fehlereinschätzung bei der Organentnahme

Es muß trotz vorsichtigem Auspressen der Organe angenommen werden, daß ein gewisses Blutvolumen dem Organ verbleibt, was zu Fehlern in der Gewichts- und Aktivitätsmessung führt. Die Tatsache, daß durch intracardiale Punktion 80-90 % des gesamten Blutvolumens gewonnen werden konnte, und sich das Restblutvolumen auf den ganzen Rattenkörper verteilt, sowie die geringe Blutaktivität, berechtigen dazu, die Fehlerbreite als sehr geringfügig einzuschätzen.

8. Gewichtsmessung

Zur Verhinderung einer Austrocknung wurden die Organe unmittelbar nach ihrer Entnahme aus dem Körper gewogen. Die Messgenauigkeit betrug 1/100 g. Die Umrechnung des Blutvolumens in gramm erfolgte mit dem spezifischen Gewicht $s = 1,056$ (11)

IV. Messverfahren der Proben

1. Apparat.

Sämtliche Proben wurden im Bohrlochzähler Baird-Atomic gemessen.

2. Messdauer.

Die Organe wurden dreimal je eine Minute lang gemessen und der Mittelwert ermittelt.

3. Background.

Der Background wurde vor der Probenmessung jedes Tieres über 10 min. lang gemessen. Er variierte während der gesamten Versuchsreihe zwischen 4900 und 3600 IPM (Impulse pro Minute).

4. Probenaufbereitung.

Sämtliche Proben wurden in gleich großen Plastikbechern gemessen. Mit Ausnahme des Kadavers, der zweigeteilt und in Plastikfolien verpackt gemessen wurde, sowie des Blutes, das in einer 10 ml Spritze in das Meßgerät gelegt wurde, konnten die Organe und die von radioaktivem Urin durchtränkten Tupfer bis auf ungefähr 3 cm Abweichung immer in die gleiche Meßposition in das Zählrohr gebracht werden.

5. Fehler der Radioaktivitätsmessung.

Die Korrektur der Zerfallzeit eines Isotops kann durch die Anwendung der generellen Formel

$$N=N_0^{-1t} = N_0^{-0,693t/T}$$

vorgenommen werden. Dabei bedeutet

N_0 = Anfangsintensität der Strahlung

N = Die Intensität der Strahlung zur Zeit t

λ = Die Zerfallskonstante

T = Die Halbwertszeit, nach welcher die Intensität nur noch halb so groß ist

Die lange Halbwertszeit von $T_{1/2} = 270$ Tage des Isotops Co^{57} als auch die zeitlich nur geringfügig versetzte Messung der Initialdosis und der Organaktivität veranlaßte dazu, keine Zerfallskorrektur vorzunehmen.

6. Geometrischer Fehler des Messsystems.

Wie schon erwähnt wurden alle Proben mit geringer Abweichung in dieselbe geometrische Position in das Zählrohr gebracht. Den Einfluß unterschiedlicher Meßpositionen auf die Impulszahl ist in Abb. 1a und 1b dargestellt. Dabei zeigt sich, daß der größtmögliche Fehler etwa 40 % beträgt, der wahrscheinliche aber nicht größer als 4 % ist. Lediglich die Kadavermessung ist infolge der Größe des Objekts mit einer größeren Fehlerquote behaftet.

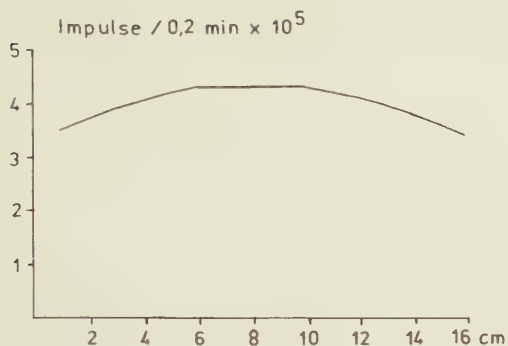


Abb.1a: Einfluß der horizontalen Meßpositionsänderung
auf die Impulszahl

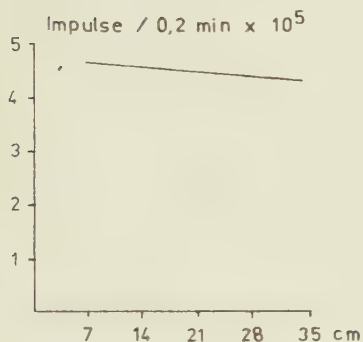


Abb.1b: Einfluß der vertikalen Meßpositionsänderung
auf die Impulszahl

7. Die Totzeit der Zählapparatur.

Das Auflösungsvermögen der Zählapparatur wurde mit gleich-
großen Co⁵⁷ Dosen ausgetestet. Dabei zeigte sich, daß sämt-
liche Organe keiner, die Indikator Dosen allerdings einer
Korrektur bedurften. Abb. 2 zeigt die Gegenüberstellung
der mathematisch geforderten Impulszahl gegenüber der von
der Apparatur tatsächlich angezeigten.

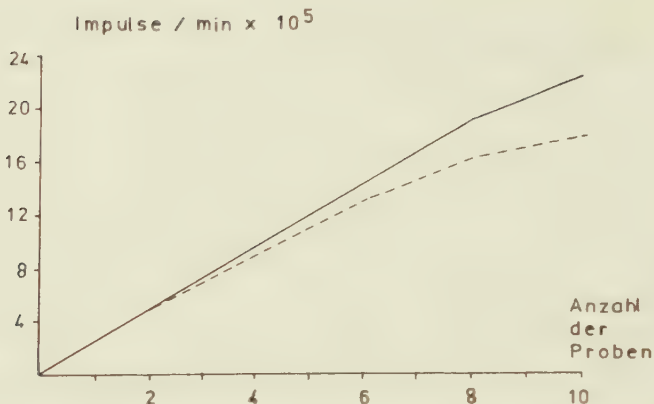


Abb.2: Impulszahländerungen bei unterschiedlicher Aktivitätsvorlage. Die durchgezogene Kurve veranschaulicht die mathematisch geforderte Impulszahlangabe, die gestrichelte Kurve stellt die von der Apparatur tatsächlich angezeigten Impulszahlangaben dar.

V. Aktivitätsverteilung in verschiedenen Organen

Nach Applikation von 60 μ g Bleomycin und 4 μ Ci Co⁵⁷ wurde zu verschiedenen Zeitpunkten, nach 15 min., 1,2,4,6,12,24 Stunden sowie nach 8 Tagen je eine Gruppe von 6 Tieren in Äthernarkose durch intracardiale Punktion getötet. Bis zur Tötungszeit wurde durch häufige Käfigspülungen sowie Entfernung der Nahrung vom Käfigboden versucht, eine erneute orale Aufnahme der schon ausgeschiedenen Aktivität zu verhindern. Folgende Organe wurden den Tieren entnommen, gewogen und auf ihren Aktivitätsgehalt untersucht: Leber, Milz, Magen, Darm, Nieren, Lunge, Herz, Muskel, Knochen, Fett, Hoden, Gehirn, und

Kadaver. Ebenfalls wurde die Vollblut-und Urinaktivität gemessen.

1. Blutclearance

Die Untersuchung des Blut- Co^{57} -Bleomycinspiegels zeigt, daß der Abfall der Indikatorsubstanz aus zwei, annähernd exponentiell verlaufenden Abschnitten zusammengesetzt ist. (Abb.3). Einem in den ersten vier Stunden steilen Abfall des Radiopharmakons folgt ein allmählich flacheres Absinken der Radioaktivität. Die hierbei maßgeblichen Vorgänge sind wohl auf hämodynamische Mischungsfaktoren, Austauschmechanismen zwischen Blut und Gewebe und vor allem auf die sofort einsetzende hohe renale Ausscheidung zurückzuführen. Für den steil abfallenden Kurvenabschnitt dürfte in erster Linie die schnelle renale Eliminierung verantwortlich sein. Die nach der 4. Stunde post injektionem langsam abfallende Blutkonzentrationskurve läßt eine Verteilungsgleichgewichtseinstellung annehmen. 24 Stunden post injektionem beinhaltet das Blut weniger als 0,22% der anfänglichen Aktivität, das sind 0,014% der insgesamt verabreichten Aktivität pro ml Blut.



Abb.3: Co^{57} -Bleomycin-Aktivität im Rattenvollblut nach i.v. Injektion von ungefähr 4 uCi als Funktion der Zeit.

2. Renale Elimination

Der renale Ausscheidungsmodus der Indikatorsubstanz wurde an fünf Ratten untersucht. Die zum Zwecke der Aktivitätsaufnahme saugfähigen Tupfer vor der Uretramündung wurden über einen Zeitraum von vier Stunden halbstündlich auf ihren Aktivitätsgehalt untersucht und durch neue ersetzt. Abb.4 zeigt die graphische Darstellung der Werte, die den prozentualen Anteil der Ausscheidungsfraktionen an der insgesamt wiedergefundenen Aktivitätsmenge, bestehend also aus Organ- und Kadaveraktivität plus der Summe aller acht Ausscheidungsfraktionen, ausdrücken.

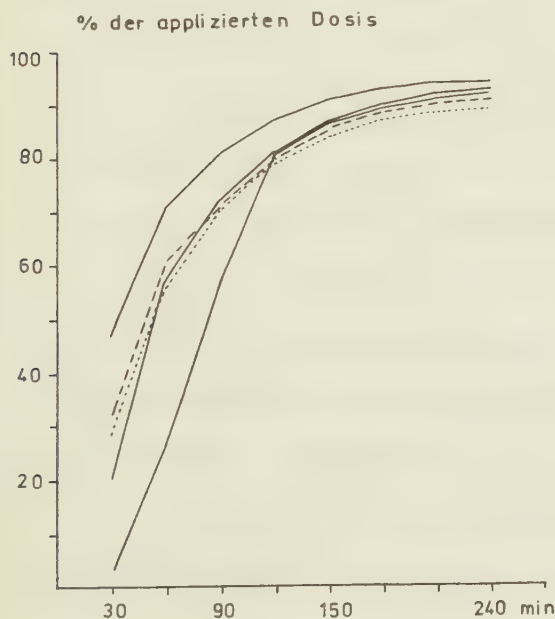


Abb. 4: Renale Co^{57} -Bleomycin Ausscheidung von 5 Ratten während 4 Stunden in % der applizierten Dosis.

Die Abbildung zeigt deutlich, daß die renale Elimination unmittelbar nach der intravenösen Verabreichung eingesetzt und das Exkretionsmaximum mit über 50 % der applizierten Aktivität schon in der ersten Stunde erreicht wird. Die Halbwertszeit der renalen Eliminierung beträgt im Mittel 50 min.. Anschließend tritt ein starker Aktivitätsabfall im Urin ein. 4 Stunden post injektionem sind über 90 % der Initialdosis renal eliminiert. Die gedanklich über die vierte Stunde hinausgeführten Exkretionskurven nähern sich nur langsam dem Initialdosenwert, was an eine stattgefundene Gewebsabwanderung mit zögernder Freigabe der Restaktivität denken läßt. Demgegenüber stehen Eliminierungswerte von J.P.Nouel et Coll., die erst nach 24 Stunden 80 % der verabreichten Co⁵⁷-Bleomycin-Aktivität bei tumortragenden Patienten im Urin nachwiesen (2). Von großer Wichtigkeit ist weiterhin ihre durch eine Urinchromatographie gesicherte Feststellung, daß die Urinaktivität sich in Form von markiertem Bleomycin und nicht etwa von freiem Co⁵⁷ wiederfindet (2). Wenn in vorliegenden Versuchen auch keine Urinchromatographie vorgenommen wurde, so läßt sich doch aus der Gegenüberstellung der von Carlberger (12) erstellten renalen Eliminierungswerte für freies Co⁵⁸ indirekt auf eine nicht stattgefundene Trennung des Co⁵⁷-Bleomycin-Komplexes schließen. Während sich bei vorliegenden Versuchen 4 Stunden nach Injektion 90 % der

applizierten Aktivität im Urin wiederfinden, wird freies Co^{58} in derselben Zeit nur zu 50 % ausgeschieden.

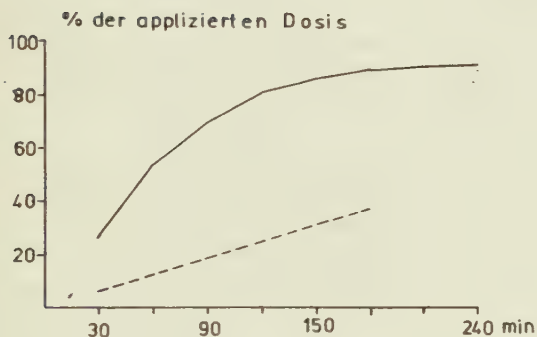


Abb.5: Aktivitätsausscheidung in % der applizierten Initialdosis.

———— = Co^{57} -Bleomycin

----- = freies Co^{58} (Werte nach Carlberger (11))

3. Fecale Elimination.

Grundlage der fecalen Eliminationswerte war die Aktivitätsmessung des gefüllten Magendarmtraktes zu verschiedenen Zeitpunkten. Entsprechend den hohen Ausscheidungs-raten im Urin konnte die Aktivitätsmessung der Ingesta keine wesentliche fecale Ausscheidung herausstellen. Die bei der Messung des Darms wiedergefundene Aktivität

könnte theoretisch folgenden Ursprung haben:

1. Die Aktivität rührt von der in diesem Organ enthaltenen Restblutaktivität.
2. Die Aktivität wird in darmspezifischen Strukturelementen angereichert.
3. Das Radiopharmakon wird in das Darmlumen sezerniert (Mucosa, Galle).
4. Kombination aus ebengenannten Mechanismen.

Bei einem Vergleich zwischen den Konzentrations-Zeit-Kurven des Darms und des Blutes zeigt sich, daß die Darmaktivität pro g. Organ nach drei Stunden über die Blutaktivität zu liegen kommt, insgesamt also langsamer ausgeschieden wird. Inwieweit intestinale Speicherungs- oder Sekretionsmechanismen seitens des hepatobilären- oder Mucosazellsystems hierfür verantwortlich sind, ließ sich unter der einfachen Versuchsbedingung nicht herausarbeiten. Angesichts der überragenden renalen Eliminierung wäre die fecale Ausscheidung wohl auch nur von untergeordneter Bedeutung. J.P. Nouel konnte bei seinen Patienten jedenfalls kein Co⁵⁷-Bleomycin im Stuhl nachweisen (2).

4. Gewebsverteilung.

Die Aktivitätsmessung der einzelnen Organe, die zu verschiedenen Zeitpunkten nach Applikation des Radiopharmakons den Tieren entnommen wurden, sollte die zeitabhängige Aufnahme- beziehungsweise Speicherungstendenz für die körperfremde Substanz studieren. Eine Übersicht

über die quantitativen Abstufungen des Verteilungsmusters liefert Tab. 1 sowie Abb. 6. Bei den Verteilungsstudien zeigen nach den Nieren in abstufender Reihenfolge Tumor, Leber und Milz die größte Aktivität.

Entsprechend der ausgesprochen kanzeroziden Wirkung wies das Tumorgewebe die zweithöchste Aktivitätskonzentration auf. Beim Vergleich der Konzentrationszeitkurven des Tumor- und Lebergewebes mit denen der Restgewebe fällt der bei einer Stunde post injectionem später liegende Zeitpunkt der maximalen Anreicherung auf. Zu einem Zeitpunkt, an dem alle Gewebsstrukturen schon von dem Radiopharmakon verlassen werden, nehmen diese beiden Organe immer noch an Radioaktivität zu. Diese zeitliche Verzögerung wird als ein Mehr an Co⁵⁷-Bleomycin-affinen Valenzen der beiden Gewebsstrukturen gedeutet. So weist denn auch der Tumor über den gesamten Versuchszeitraum die zweithöchste Aktivitätskonzentration auf.

Annähernd gleichgroße Aktivitätskonzentrationen fanden sich in der Leber und der Milz. Während der achttägigen Beobachtungszeit betrug der Aktivitätsgehalt der Leber zwischen 2,5 % und 0,01 % der Indikator-dosis, das ist etwa 5-mal weniger als die Niere und 4-mal weniger als der Tumor. Eine Erklärung für die relativ hohe Aktivitätskonzentration der Leber ist möglicherweise bei deren

Fähigkeit, Schwermetalle zu eliminieren, zu suchen. J.P.Nouel (2) erklärt den Leberaktivitätsgehalt mit dem Vorhandensein von Co^{57} -Bleomycin und vor allem von freiem Co^{57} , dessen hepatische Fixationsneigung bekannt ist. Entsprechend den Versuchen mit Mäusen, bei denen man hohe Bleomycinkonzentrationen in den Lungen fand, als auch klinischen Berichten, die eine Begrenzung der applizierbaren Bleomycindosis in den interstitiellen pneumonischen Veränderungen mit irreversibler Lungenfibrose sehen (3), kann auch nach diesen Versuchen dem Lungengewebe eine Affinität zum Bleomycinkomplex zugesprochen werden. In den ersten 6 Stunden fanden sich hier zwischen 0,5 % und 0,03 % der Initialdosis wieder.

Die geringste Aktivitätskonzentration fand sich im Gehirn. Hier konnte maximal nur 0,01 % der applizierten Dosis pro g. wiedergefunden werden. Ob hierfür eine fehlende Speicherungstendenz des Organs oder einfach eine Blut-Liquorschranke verantwortlich zu machen sind, müßte durch zusätzliche Untersuchungen herausgearbeitet werden. Geringe Aktivitätskonzentrationen wurden in Knochen, Herz, Hoden, Fett und Muskel festgestellt. Über den Stellenwert dieser Gewebsstrukturen im Verteilungsmuster gibt Tab. 1 Auskunft.

Zeit/h Organ	025	1	2	4	6	12	24	192
Leber	0,17	0,37	0,105	0,076	0,079	0,06	0,029	0,0096
Milz	0,216	0,23	0,091	0,069	0,054	0,048	0,02	0,0085
Herz	0,318	0,20	0,033	0,0076	0,0073	0,005	0,0018	0,0007
Lunge	0,54	0,43	0,10	0,04	0,033	0,025	0,01	0,005
Gehirn	0,016	0,016	8,0031	0,0018	0,002	0,0006	0,0023	0,0016
Magen	0,113	0,056	0,015	0,006	0,0058	0,0036	0,002	0,0013
Darm	0,156	0,11	0,031	0,025	0,025	0,015	0,0096	0,0009
Niere	7,64	2,99	1,14	0,945	0,65	0,56	0,4	0,13
Muskel	0,12	0,073	0,016	0,0031	0,0026	0,0021	0,0007	0,001
Knochen	0,20	0,15	0,033	0,0086	0,0068	0,0046	0,0017	0,0017
Fett	0,061	0,048	0,0073	0,0032	0,0041	0,0019	0,0029	0,0039
Tumor	0,368	0,75	0,4	0,4	0,39	0,32	0,08	0,01
Hoden	0,072		0,026	0,0083			0,0023	0,0005
Blut	0,62	0,321	0,053	0,0073	0,0055	0,0038	0,0016	0,0007

Tab. 1: Die Tabelle drückt den Mittelwert der zeitabhängigen Aktivitätskonzentration pro g. Organ in % der applizierten Dosis aus.



Abb.6: Halblogarithmische Darstellung der Organaktivitätskonzentration als Funktion der Zeit.

1=Niere, 2=Tumor, 3=Leber, 4=Milz, 5=Darm, 6=Magen.

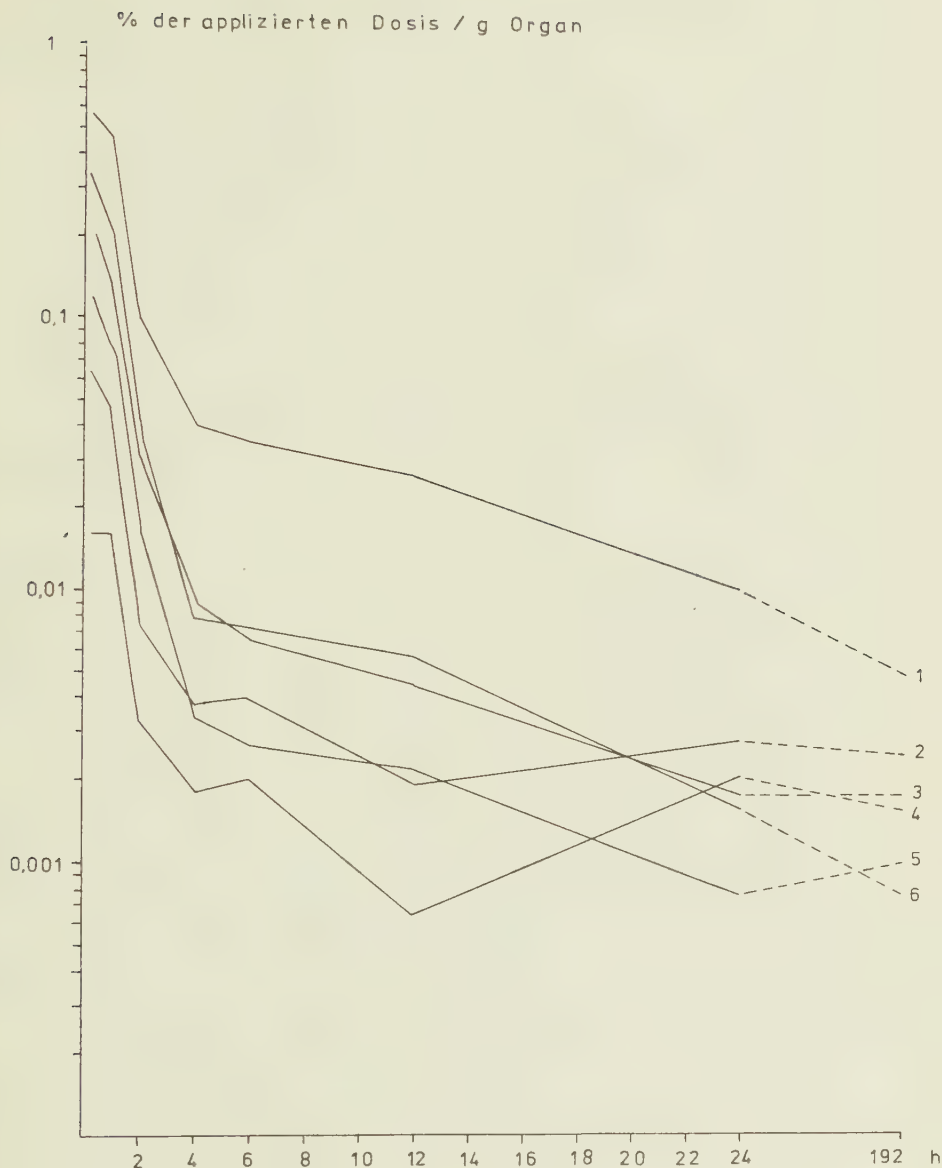


Abb.6: Halblogarithmische Darstellung der Organaktivitätskonzentration als Funktion der Zeit.

1=Lunge, 2=Fett, 3=Knochen, 4=Gehirn, 5=Muskel, 6=Herz

VI. Relative Aktivitätsanreicherung der Gewebe

Besonderes Interesse gilt der Interpretation des Quotienten spez. Aktivität im Organ/spez. Aktivität im Blut. Geht man von der Überlegung aus, daß, selbst nach dem Zeitpunkt der maximalen Anreicherung, die Abwanderung des Tracers aus den verschiedenen Geweben langsamer als aus dem Blut vor sich geht, so spiegelt sich in dieser Größe die relative Anreicherungskinetik in den Organen wider. Eine Übersicht der Organ/Blut-Quotienten liefert Tab. 4. Es galt nun herauszufinden, ob die Verteilungsfunktion des Quotienten zwischen den einzelnen Zeitpunkten nur rein zufällig voneinander abweichen, oder ob sie sich statistisch signifikant voneinander unterscheiden. Zu diesem Zweck wurde der H-Test nach Kruskal (13) und Wallis herangezogen. Der Test geht von folgendem Grundgedanken aus: Unter der Annahme, daß alle k Stichproben aus ein und derselben Grundeinheit stammen, (Nullhypothese), vereinigen wir die k Stichproben zu einem Kollektiv mit dem Umfang n , teilen allen Meßwerten Ränge von $1-n$ zu, sortieren die Ränge nach den k Einzelstichproben, und betrachten deren Rangsummen, R_i ($i=1,2,\dots,k$). Wenn z. B. alle Stichproben gleichgroß sind, erwarten wir bei Geltung der Nullhypothese, daß die Rangsummen nur zufällig voneinander abweichen. Ist die Abweichung erheblich, dann vermuten wir mit Recht, daß die Alternativhypothese zutrifft, d. h. die Verteilungsfunktionen sind nicht gleich.

Zur Prüfung der Nullhypothese gibt Kruskal folgende Testgröße an:

$$T = \frac{12k}{n^2(n+1)} \cdot \sum_i R_i^2 - 3(n+1)$$

Die Signifikanzbeurteilung von T in Abhängigkeit von n und k erfolgt anhand einer χ^2 -Tafel.

Als Beispiel wird im folgenden dieser Test für den Tumor/Blut-Quotienten durchgeführt.

Gegeben sind 7 Stichproben, 0,25h-24h. Rechts neben den vertikal angeordneten Quotienten der n-Versuchstiere notieren wir die Rangwerte, die dann zu den Rangsummen R_i addiert werden.

Zeit Tier h	0.25	1	2	4	6	12	24
1	0.43 2	2.37 10	13.33 18	29.0 19	50.0 24	82.5 37	66.0 26
2	0.82 6	2.96 11	10.5 17	56.25 25	73.3 33	82.0 36	35.0 20.5
3	0.57 3	3.08 12	6.0 14	66.6 31	130.0 42	96.6 39	43.75 22
4	0.75 5	2.13 8	7.75 16	62.8 28	112.5 41	72.5 32	35.0 20.5
5	0.71 4	2.26 9	5.6 13	63.7 29	72.0 35	96.7 40	84.0 38
6	0.4 1	1.73 7	6.57 15	62.0 27	48.5 23	77.5 34	65.0 30
Ri	21	57	93	159	198	218	157

$$T = \frac{12 \cdot 7}{42^2 \cdot 43} \cdot 148811 - 3 \cdot (43)$$

$$T = 35,93$$

Die 99 % Sicherheitsgrenze der χ^2 -Verteilung mit $k-1=6$ Freiheitsgraden liegt bei 16,8, d. h. die Ver-

teilung des Tumor/Blut-Quotienten ist nicht für alle Meßzeiten die gleiche. Der Kruskal-Wallistest wurde für alle Organ-Blut-Quotienten durchgeführt. Die Rangsummen zu den einzelnen Zeitpunkten sind in Tab. 2 aufgeführt.

Zeit Organ h	R _i							T
	0,25	1	2	4	6	12	24	
Leber	21	66	84	137,5	187	198,5	209	30,73
Niere	44	37	90	158	157	181,5	235	36,14
Lunge	21	61	92,5	162,5	178	190	198	32,74
Milz	21	58	92	154,5	179,5	203	195	34,38
Muskel	48	68	101,5	156,5	175	199,5	155	21,74
Magen	58,5	51,5	88,5	172	185,5	149,5	197,5	25,53
Knochen	28,5	75	94	176	186,5	168	133	25,28
Darm	23	60	88	158	190	165	219	34,97
Gehirn	43	59,5	89	125,5	116,5	128,5	141	26,88

Tab. 2

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, sind die Unterschiede zwischen den Zeitpunkten für jeden Organ/Blut-Quotienten mit großer Sicherheit nicht dem Zufall zuzuschreiben.

Die Signifikanzbeurteilung der Quotientdifferenzen zwischen den einzelnen Zeitpunkten geschieht unter Anwendung des Verfahrens von Wilcoxon und Wilcox (13).

Man bildet die Differenzen der in Tab. 2 abgebildeten Rangsummen und vergleicht sie mit dem Wert der kritischen Differenz einer normierten Tabelle. Wird die tabellierte kritische Differenz erreicht oder überschritten, dann bestehen Unterschiede zwischen den beiden dem Vergleich zugrunde liegenden Zeitpunkten. Bleibt die berechnete Differenz unter der tabellierten kritischen Differenz, dann gilt der Unterschied als zufällig oder als nicht signifikant.

Die ausführliche Durchführung des Wilcoxon Testes soll wieder anhand des Tumor/Blut-Quotienten erfolgen.

t	Ri	t	1	2	4	6	12	24
		Ri	57	93	159	194	218	157
0,25	21		36	72	138 x	173 x x	197 x x	136 x
1	57			36	102	116	161 x x	79
2	93				66	101	125	64
4	159					35	59	-2
6	194						24	-37
12	218							-61

Die kritische Differenz für $k=7$ und $n=6$ beträgt auf dem 5% Niveau 125,3 , auf dem 1% Niveau 146,7.

Die auf dem 5% Niveau signifikanten Differenzen sind mit einem Kreuz, die auf dem 1%- Signifikanzniveau bedeutsamen Differenzen sind mit zwei Kreuzen versehen.

Die Auswertung besagt, daß eine auffällige (+) relative Anreicherung zwischen 0,25 h und 4 h stattfindet, und eine signifikante (++) zwischen 0,25 h und 6 h und 12 h. Ebenso signifikant war die Anreicherung zwischen 1 h und 2 h.

In der nun folgenden Abb. 7 ist die Anreicherungskinetik graphisch dargestellt. Die nachfolgende Tab. 4 gibt Auskunft, inwieweit dem Verlauf der Kurven statistisch signifikante Unterschiede entsprechen.



Abb. 7: Halblogarithmische Darstellung der Organ/Blutquotienten als Funktion der Zeit.

1=Niere, 2=Tumor, 3=Leber, 4=Knochen, 5=Muskel.

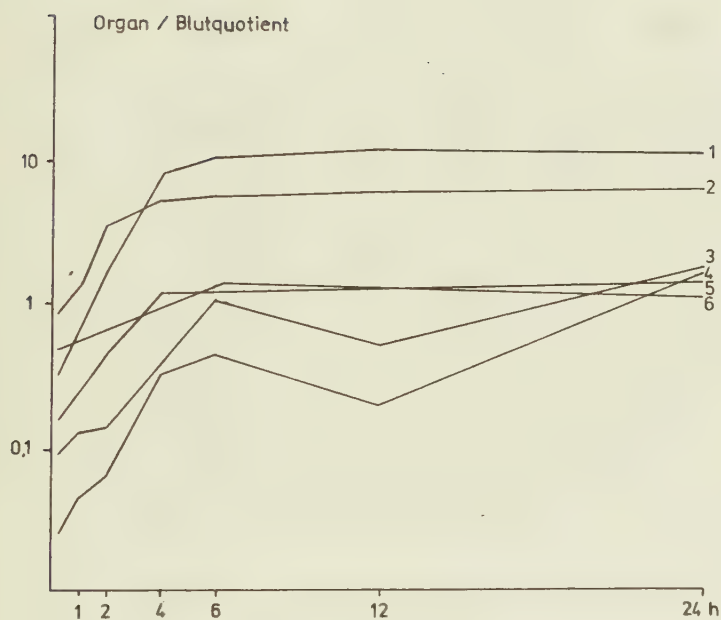


Abb. 7: Halblogarithmische Darstellung der Organ/
Blutquotienten als Funktion der Zeit.
1=Milz, 2=Lunge, 3=Fett, 4=Gehirn, 5=Hoden,
6=Herz.

Zeit Organ \ h	0,25-2	0,25-4	0,25-6	0,25-24	1-6	1-12	1-24	2-24	0,25-12
Tumor	o	+	++	+	o	++	o	o	++
Niere	o	o	o	++	o	+	++	+	+
Leber	o	o	++	++	o	+	+	o	++
Milz	o	+	++	++	o	o	o	o	++
Muskel	o	o	+	o	o	+	o	o	++
Knochen	o	++	++	o	o	o	o	o	+
Lunge	o	+	++	++	o	o	o	o	++
Magen	o	o	+	+	+	o	+	o	o
Darm	o	+	++	++	o	o	++	o	o

Tab.3:

Signifikanzangabe der Quotientendifferenzen zwischen
den einzelnen Zeitpunkten:

Signifikanz auf dem 5% Niveau +
Signifikanz auf dem 1% Niveau ++
Nicht signifikant o

Zeit Organ h	0,25 h	1 h	2 h	4 h	6 h	12 h	24 h
Leber	x= 0,27 s= 0,014	1,15 0,40	2,32 1,43	10,40 1,57	15,83 5,95	15,9 3,97	20,43 8,18
Milz	0,34 0,042	0,74 0,21	1,98 0,94	8,45 1,37	10,88 4,43	12,73 3,37	12,7 5,83
Herz	0,49 0,044	0,59 0,14	0,67 0,2	1,03 0,19	1,32 0,44	1,31 0,19	1,2 0,41
Lunge	0,86 0,075	1,31 0,25	3,87 3,82	5,36 0,98	6,09 2,55	6,6 2,05	6,87 1,84
Gehirn	0,026 0,04	0,045 0,045	0,064 0,054	0,32 0,62	0,46 0,28	0,20 0,095	1,7 0,47
Magen	0,2 0,138	0,18 0,050	0,32 0,19	0,9 0,44	1,23 0,86	0,91 0,88	1,37 0,86
Darm	0,24 0,03	0,34 0,065	0,67 0,25	3,64 1,41	4,94 1,79	3,86 1,00	6,68 2,59
Niere	11,02 4,96	8,93 2,48	22,9 5,6	126,93 24,81	127,5 35,05	151,41 38,60	2,78 111,48
Muskel	0,20 0,014	0,23 0,069	0,29 0,14	0,41 0,16	0,47 0,16	0,56 0,14	0,45 0,21
Knochen	0,33 0,044	0,5 0,24	0,68 0,26	1,21 0,49	1,39 0,31	1,18 0,45	1,14 0,53
Fett	0,093 0,01	0,14 0,093	0,15 0,096	0,40 0,35	1,02 0,57	0,53 0,71	2,05 1,85
Tumor	0,61 0,17	2,42 0,51	8,29 3,03	56,72 13,99	81,05 33,31	84,51 9,58	53,79 19,41
Hoden	0,16 0,026			1,14 0,38			1,50 0,56

Tab. 4: Die Tabelle drückt x= Mittelwert und s= Standartabweichung der Organ/Blutquotienten als Funktion der Zeit aus.

VII. Stabilität in vitro und in vivo

Im Tierversuch wurde der Nachweis erbracht, daß Bleomycin von verschiedenen Gewebsstrukturen enzymatisch inaktiviert wird (3). Der Gedanke, daß die wiedergefundene Aktivität nicht von markiertem Bleomycin sondern vom freien Nuklid herrührt, liegt somit nahe. Die von H. Renault (1) durchgeführte in vitro Stabilitätsprüfung ergab, daß der Co^{57} -Bleomycin-Komplex verschiedenen pH-Werten gegenüber stabil ist, in Gegenwart des Chelatbildners EDTA allerdings eine Spaltung erfährt. Wichtiger dagegen bezüglich einer medizinischen Anwendung ist die Kenntnis der in vivo Stabilität. Zu diesem Zweck wurde von ebengenanntem Autor Gewebsverteilungsstudien mit freiem Co^{57} und mit Co^{57} -Bleomycin an Mäusen gemacht. Die dabei erarbeiteten unterschiedlichen Konzentrationskurven des Blutes lassen die Autoren nicht an eine Spaltung des Chelatkomplexes denken.

Die Gegenüberstellung der aus eigener Untersuchung gewonnenen Konzentrationszeitkurven des Blutes mit der von Schwiegl (14) erarbeiteten Plasma-Konzentrations-Zeitkurve nach intravenöser Injektion von weniger als $10 \mu\text{Ci}$ des kurzlebigen Isotops Co^{55} weisen ähnliche quantitative und qualitative Unterschiede auf (Abb.8). So zeigt der Vergleich der frühen Phase, daß in den

ersten 4 Stunden der Bleomycin-Komplex wesentlich schneller die Blutbahn verläßt als das freie Isotop Co^{55} , daß aber nach diesem Zeitpunkt die Elimination beider Substanzen gleich schnell verläuft, allerdings auf unterschiedlichem Niveau. Dieses unterschiedliche Verhalten der beiden Blutkonzentrationszeitkurven kann mit ebengenanntem Autor durch eine nicht eingetretene Spaltung des Co^{57} -Bleomycin-Komplexes erklärt werden. Zum anderen ist an die Möglichkeit zu denken, daß die langsame Phase der Co^{57} -Bleomycin Blutkonzentrationszeitkurve, da sie ja mit der des freien Co^{55} annähernd parallel verläuft, nur das Abwandern des freien Co^{57} aus dem Blut widerspiegelt. Voraussetzung dieser Überlegung wäre:

Nach der ersten steilen Phase der Co^{57} -Bleomycin-Blutspiegelkurve wird ein Teil des Chelatkomplexes in verschiedenen Geweben durch deren bekannte enzymatische Inaktivierungsfähigkeit (3) oder auch andere Mechanismen gespalten, und das frei werdende Nuklid gelangt wieder in die Blutbahn. Die anfänglich stärkere Co^{57} -Bleomycin Elimination erklärt dann das unterschiedliche Niveau der beiden Isotope im weiteren Verlauf der Kurven. Für In^{111} -Bleomycin jedenfalls, ein weiteres Radiopharmakon, dessen Verwendung zur Aufdeckung von bösartigen Tumoren erprobt wird, scheint der eben erklärte Mechanismus zuzutreffen. Hier konnte

nach Analyse der Blutproben von Wistar-Ratten 4 Stunden nach Applikation keine an Bleomycin gekoppelte In^{111} Aktivität wiedergefunden werden (15), (Abb.8).

Auch wenn Nouell et coll. -wie schon erwähnt- die Aktivität des 24-Stundenurins als eine an Bleomycin gekoppelte wiederfanden, so kann in diesen Versuchen keine sichere Aussage über die in vivo Stabilität des Chelatkomplexes gemacht werden. Die Stabilitätsaussage von Nouell, erhalten durch Untersuchungen am Patienten, sind nicht ohne weiteres auf vorliegende Tierversuche zu übertragen.

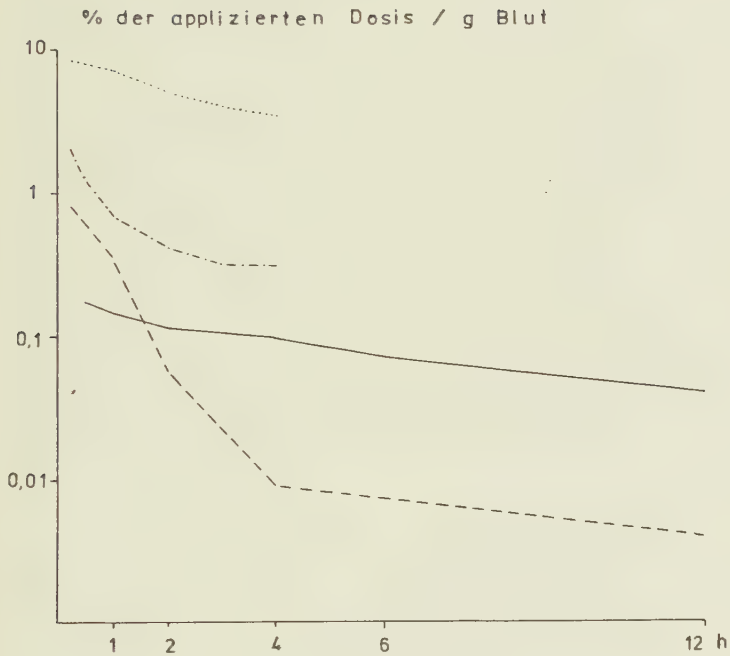


Abb.8:

- = Blutkonzentrationszeitkurven für freies In^{111}
- .-.-. = und In^{111} -Bleomycin
- = Blutkonzentrationszeitkurven für freies Co^{55}
- = und Co^{55} -Bleomycin

VIII. Diskussion

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Biokinetik des Co^{57} -Bleomycin-Komplexes, also der quantitativen Auseinandersetzung des Organismus und der ihm einverleibten Fremdsubstanz.

Die Biokinetik bezieht ihre Daten vorwiegend aus der Kreislaufflüssigkeit und aus dem Harn. Beide Substanzen sind leicht zugänglich und die Konzentrationszeitkurve im Blut, dem Transportorgan, ist dabei die Resultante der verschiedenen Teilprozesse, denen der zu untersuchende Stoff im Körper unterworfen ist. Im Einzelnen wird dabei der Kurvenverlauf nach einmaliger intravenöser Applikation durch folgende Faktoren bestimmt:

1. Aufnahme ins Blut
2. Verteilung im Blut
3. Transport durch das Blut
4. Diffusion zu den für die pharmakologische Wirkung verantwortlichen Rezeptoren
5. Gleichzeitige Diffusion in Flüssigkeitsräume, die dem Stoff auf Grund seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften zugänglich sind.
6. Diffusion zu denjenigen Organen, in denen der Eliminationsprozess stattfindet
7. Irreversible Elimination

Unter Einbeziehung dieser rein theoretischen Überlegung läßt sich der initial schnelle Abfall des in die Vena jugularis injizierten Co^{57} -BLM hinreichend erklären. Da vom Zeitpunkt der Injektion bis zum ersten Meßzeitpunkt minimal 15 min. vergingen, stand der Verteilung ins Blutvolumen genügend Zeit zur Verfügung. Diese Durchmischung ist einer der Gründe, warum 15 min. nach Applikation nur noch 5 % der Indikator-dosis pro 10ml Blut gefunden werden konnte. Die parallel zu diesem Durchmischungsvorgang sofort einsetzende hohe renale Ausscheidung, sowie die durch seine physikalisch-chemischen Eigenschaften bedingte Diffusion in Verteilungsräume oder Organe, die, wie Abb.6 zeigt, stattgefunden haben muß, bestimmt ebenfalls den Steigungsgrad der Blutkonzentrationszeitkurve. Bei der weiteren Betrachtung des Kurvenverlaufs, der die Elimination der Fremdschubstanz aus dem Blut widerspiegelt, fallen die unterschiedlichen Absinkraten der Co^{57} -BLM-Konzentration auf. Einem in den ersten vier Stunden steilen, annähernd exponentiell verlaufenden Abfall des Radiopharmakons folgt, nach einem kurzen Intervall mit inkonstanter Absinkrate, ein allmählich flacheres, wiederum annähernd exponentielles Absinken der Radioaktivität, wobei sich die Übergangszone von der ersten schnellen zur zweiten langsamen Absinkphase graphisch im halblogarithmischen

Raster nicht als gerade Linie darstellt, sondern eine Konvexität zur Diagrammabzisse hin aufweist. Würde die Konzentrationszeitkurve lediglich die Elimination des in den Blutstrom applizierten Chelatkomplexes widerspiegeln, so müßte sich die Kurve im halblogarithmischen Koordinatensystem linear verlaufend darstellen, also als Funktion erster Ordnung. So aber könnte man annehmen, daß aus irgendeinem Compartment oder Organ eine gewisse Co^{57} -BLM Menge in den Blutstrom zurückkehrt und damit einen verzögerten Konzentrationsabfall in ihm bedingt. Bei der Gegenüberstellung der Blutkonzentrationszeitkurven des Blutes und der der Organe, insbesondere von Niere, Tumor, Leber und Milz, zeigt sich, daß die Blutradioaktivität früher unter die der eben genannten Gewebsstrukturen fällt, so daß sich die Radioaktivitätsrückkehr in den Blutstrom auf dem Wege eines Konzentrationsausgleichs vom Organ zum Blut erklären ließe. Zum anderen muß daran erinnert werden, daß BLM von verschiedenen Geweben enzymatisch inaktiviert wird. Die Tatsache, daß die Elimination des freien Isotops Co^{55} (14) aus dem Blut annähernd parallel zu der zweiten, langsamen und exponentiell verlaufenden Eliminationsphase des in dieser Arbeit zu untersuchenden Co^{57} -BLM-Komplexes verläuft, erlaubt die Überlegung, ob der Steigungsgrad dieser Eliminationsphase möglicherweise

nur durch die Ausscheidung des freien Isotops Co^{57} bedingt wird. Wie in Kap.VII ausgeführt, scheint dies für In^{111} -BLM zuzutreffen. Hier konnte vier Stunden post injektionem keine an BLM gekoppelte In^{111} -Aktivität wiedergefunden werden. Das zeitliche Zusammentreffen der langsamen Phase der Konzentrationskurve von Co^{57} -BLM mit dem Auftauchen der freien In^{111} -Aktivität, scheint diese Annahme zu bekräftigen.

Wie dem auch sei, der zur Abzisse hin konvexbogige Verlauf der Blutkonzentrationszeitkurve im semilogarithmischen Diagramm sowie die Änderung der Organ/Blut-Quotienten lassen darauf schließen, daß die Radioaktivität im Rattenkörper einer ungleichen Verteilung unterworfen ist. Hierbei lassen die signifikant langsameren Absinkraten von Co^{57} -Bleomycin aus den Geweben auf eine Co-Aufnahme oder auf eine verzögerte Freisetzung der radioaktiven Substanz, was einen verzögerten Co^{57} -Bleomycin Metabolismus anzeigt, schließen. Während diese Annahme ohne weiteres der Erklärung für eine Aktivitätsanreicherung der verschiedenen Organe zugrunde gelegt werden kann, herrschen beider Niere jedoch besondere Verhältnisse vor. Hier muß, da dieses Organ die überragende Rolle in der Ausscheidung des Co^{57} -Bleo-

mycins spielt, diskutiert werden, ob die Anreicherung der gammastrahlenden Substanz als ein echter Prädilektionsvorgang oder lediglich als Ausdruck der exkretorischen Funktion dieses Organs aufzufassen ist. Auffallend ist, daß die Nieren während des gesamten Zeitraums die größte Aktivität von allen Organen besitzen, wobei doch, wie in Abb. 5 schon gezeigt wurde, die renale Aktivitätseliminierung nach 6 Stunden praktisch null ist. Viel wichtiger dagegen ist die Tatsache, daß die Konzentrationszeitkurven des Urins und die der Niere einen voneinander abweichenden Kurvenverlauf zeigen. Würde die in der Niere wiedergefundene Aktivität lediglich von der Aktivität der in diesem Organ verbliebenen Restharnmenge stammen, so müßten beide Konzentrationszeitkurven den gleichen Verlauf aufweisen. So aber steht im halblogarithmischen Raster die zur Abzisse hin konvexbögig verlaufende Konzentrationszeitkurve der Niere einer exponentiell verlaufenden Konzentrationszeitkurve des Urins gegenüber. Es muß sich demnach um eine hohe Affinität zum Nierenparenchym und nicht um ein einfaches Eliminationsphänomen handeln.

Die Tatsache, daß für eine scintigraphische Organ-

bzw. Tumordarstellung weniger die absolute als vielmehr die auf die Umgebung bezogene also relative Aktivitätsanreicherung von Bedeutung ist, veranlaßte dazu, den Organ/Blut-Quotienten sämtlicher Organe zu bestimmen. Die statistisch signifikante relative Anreicherung des Co^{57} -Bleomycin-Komplexes in den verschiedenen Geweben wird durch folgende zwei Faktoren beeinflußt:

1. Wahre Anreicherung der Substanz in den unterschiedlichen Geweben.
2. Relative Anreicherung der Substanz durch Abnahme der Blutradoaktivität infolge Akkumulation und renaler Elimination.

Das Verteilungsmuster der Quotienten und deren statistische Auswertung zeigt, daß alle Gewebe, bis auf das Gehirn, bezogen auf die Blutaktivität eine relative Aktivitätszunahme erfahren. Die Testsubstanz verläßt das Blut also schneller als die verschiedenen Gewebsstrukturen.

Die relative Aktivitätszunahme der den Tumor umgebenden Gewebe wie Muskel, Knochen, Fett usw. ist hinsichtlich einer scintigraphischen Darstellung allerdings nicht wünschenswert. Die hohe absolute Aktivitätsanreicherung des Tumorgewebes jedoch läßt ihn auch im Verteilungsschema der relativen

Anreicherungskinetik den zweithöchsten Stellenwert einnehmen, so daß eine scintigraphisch auswertbare Kontrastierung entsteht. In die Überlegungen, Co^{57} -Bleomycin in der Tumordiagnostik zu verwenden, ist jedoch die hohe renale Ausscheidung mit einzubeziehen. Die Ausscheidung von vielen mCi-Beträgen des langlebigen Isotops Co^{57} ($T_{1/2} = 270$ Tage) ist hinsichtlich seiner Anwendung am Menschen ein limitierender Faktor. Auch wenn das Sammeln der Ausscheidung über einen bestimmten Zeitraum hin möglich ist, so stellt es doch eine nicht wünschenswerte Zusatzbelastung des Patienten sowie des medizinischen Personals dar.

IX. Zusammenfassung

Nach intravenöser Applikation des Co^{57} -Bleomycin-Komplexes in die vena jugularis wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach 0,25, 1, 2, 4, 6, 12, 24 Stunden sowie nach 8 Tagen, je eine Gruppe von 6 Wistar-Ratten in Äthernarkose durch intrakardiale Punktion getötet. Folgende Organe wurden den Tieren entnommen und auf ihren Aktivitätsgehalt untersucht: Leber, Milz, Magen, Darm, Nieren, Lunge, Herz, Muskel, Knochen, Fett, Hoden, Gehirn und der Kadaver. Ebenfalls wurde die Vollblutaktivität und die Urinaktivität gemessen.

1. Der Abfall der Indikatorsubstanz im Blut besteht aus zwei fast annähernd exponentiell verlaufenden Abschnitten. Einem in den ersten vier Stunden steilen Abfall folgt ein allmählich flacheres Absinken der Radioaktivität. 24 Stunden post injektionem beinhaltete das Blut noch 0,014% pro 10ml der applizierten Dosis.

2. Renale Elimination

Der Hauptausscheidungsweg der radioaktiven Substanz läuft über die Nieren. Während der ersten vier Stunden post injektionem werden über 90% der applizierten Dosis renal eliminiert, wobei das Exkretionsmaximum mit über 50% der appli-

zierten Dosis schon in der ersten Stunde erreicht wird.

3. Gewebsverteilung.

Alle Gewebsstrukturen nehmen die radioaktive Testsubstanz in unterschiedlicher Menge auf. Die meiste Radioaktivität konnte bei Niere, Tumor und Leber wiedergefunden werden. Die Konzentrationszeitkurven der Organe weisen bis auf das Gehirn gegenüber dem Blut eine statistisch signifikant langsamere Absinkrate der Aktivitätskonzentration auf.

4. Relative Aktivitätsanreicherung.

Die Aktivitätsanreicherung des Tumors läßt ihn im Verteilungsschema der relativen Anreicherungskinetik den zweithöchsten Stellenwert einnehmen. Hierdurch entsteht eine scintigraphisch auswertbare Kontrastierung.

X. Literatur

1. Renault, H.: Chelations de Cations radioactifs par un Polypeptide: La Bleomycine IAEA/SM-171/24
2. Nouell, J. P.: La Bleomycine marquee au Co⁵⁷
Nouv. Presse. med., 1972, 1, Nr. 2, S. 95-98
3. Christensen, L.: Bleomycin ein neues Antitumor-Antibiotikum zur Behandlung neoplastischer Krankheiten.
Wiener Klinische Wochenschrift 84 (46), 737-743 (1972)
4. Umezawa, H.: New antibiotics, bleomycin A and B
Journal of antibiotics A19, 200-209 (1966)
5. Ishizuka, M.: Aktivität und Toxizität von bleomycin
Journal of antibiotics A20, 15-24 (1967)
6. Kobayashi, T.: Reductase activity of DNA polymerase prepared from bleomycin treated cancer cells.
Journal of antibiotics 24, 519-525 (1971)
7. Yamaki, H.: Effects of bleomycinA₂ on desoxyribonuklease, DNA polymerase and ligase reactions.
Journal of antibiotics 24, 178-184 (1971)
8. Terasima, T.: Lethal effect of bleomycin on cultured mammalian cells. Journal of antibiotics 23, 300-304 (1970)
9. Barranco, S.C.: The effects of survival and cell progression in Chinese-hamster cells in vitro
Cancer research 31, 1218-1223 (1971)

10. Guerin, M.: Tumeurs spontanees des animaux de
laboratoire Paris 1954
11. Farris, E.J.: The rat in laboratory investigation
New York 1962 S. 413
12. Carlberger, G.: Kinetics and distribution of
radioaktive Cobalt administered to the mammalian
body.
Akta radiol. Suppl. 205,9-126 (1961)
13. Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden.
2. Auflage Berlin 1969
14. Schwiegk, H.: Künstliche radioaktive Isotops in
Physiologie, Diagnostik und Therapie.
Berlin-Göttingen-Heidelberg 1953
15. Thakur, M.H.: Some pharmacological aspekts of a new
radiopharmaceutical, In ¹¹¹-Bleomycin
IAEA/SM-171/7

XI. Lebenslauf

Am 24.3.1946 wurde ich als Sohn des Dr. med. Erich Pies und dessen Ehefrau Dr. med. Ottilie Pies, geb. Oberbeck, in Trier geboren.

Ich besuchte in Trier von 1952 bis 1956 die Volksschule und anschliessend das dortige humanistische Friedrich-Wilhelm-Gymnasium. Mit Erhalt der Mittleren Reife wechselte ich auf das humanistische Regino-Gymnasium in Prüm über und legte dort im Herbst 1966 die Reifeprüfung ab.

Nach Ableistung meines 18monatigen Grundwehrdienstes bei der Bundesmarine begann ich im Herbst 1968 das Medizinstudium an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz, an der ich fünf vorklinische und sechs klinische Semester studierte. Während des zweiten klinischen Semesters war ich an der Grazer Universität immatrikuliert. Am 12.12.1974 absolvierte ich das Staatsexamen an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz. Nach Beendigung der Medizinalassistentenzeit erhielt ich am 11.8.1976 die Approbation.

